

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-275800

(43)公開日 平成8年(1996)10月22日

| (51) Int.Cl. <sup>6</sup> | 識別記号 | 序内整理番号  | F I          | 技術表示箇所 |
|---------------------------|------|---------|--------------|--------|
| C 12 Q 1/68               |      | 9453-4B | C 12 Q 1/68  | A      |
| C 07 H 21/04              |      |         | C 07 H 21/04 | B      |
| C 12 M 1/00               |      |         | C 12 M 1/00  | A      |
| C 12 N 15/09              |      | 9162-4B | C 12 N 15/09 | A      |

審査請求 有 請求項の数10 O L (全 19 頁)

(21)出願番号 特願平8-68037

(71)出願人 591007332

ベクトン・ディッキンソン・アンド・カン  
パニー

TECTON DICKINSON AN  
D COMPANY

アメリカ合衆国ニュージャージー州07417  
-1880, フランクリン・レイクス, ワン・  
ベクトン・ドライブ (番地なし)

(72)発明者 アレン・エス・リーチラー

アメリカ合衆国メリーランド州21117, オ  
ーウィングス・ミルズ, コーチハウス・ド  
ライブ 1

(74)代理人 弁理士 湯浅 恒三 (外6名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 核酸増幅方法及び装置

(57)【要約】 (修正有)

【課題】 汚染除去プロセス及び増幅プロセスの間の液体生物学的サンプルの過剰な蒸発を起こすことなく微小溝及び類似のタイプの流れ制御手段を所望により削除することができる、生物学的プロセスを行うための装置を提供する。

【解決手段】 液体生物学的サンプルを含有しそしてそれで生物学的プロセスを行うための装置であって、該サンプルを受けるためのサンプル域、該サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、該反応域及び該サンプル域と空気連絡している空気域、及び該装置を空気吸引／送出手段につなぐための該空気域内の空気口を含む装置。空気吸引／送出手段は、サンプル域と反応域の間に液体生物学的サンプルの制御された流れを提供する。装置からのサンプルの蒸発損失を減少するために、サンプル域と流体連絡しているサンプル塔を備える。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 液体生物学的サンプルを含有しそしてそれで生物学的プロセスを行うための装置であって、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域であって、前記サンプルを前記サンプル域に入れるためのオリフィスを有するサンプル域；前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域；前記反応域及び前記サンプル域と空気連絡している空気域；前記装置を空気吸引／送出手段につなぐための前記空気域内の空気口であって、前記吸引／送出手段が前記サンプル域と前記反応域の間で前記液体生物学的サンプルの流れを起こさせる空気口；及び前記サンプル域及び前記反応域からの前記液体生物学的サンプルの蒸発を減少させるために前記サンプル域と流体連絡しているサンプル塔であって、前記液体生物学的サンプルを前記装置に入れるためのサンプル口を有するサンプル塔；を含む装置。

【請求項2】 前記サンプル塔と前記サンプル域の間に制限流路を提供するために前記オリフィスが前記サンプル塔と前記サンプル域の隣接部分よりも小さな大きさであって、前記制限流路が前記サンプル域から前記反応域への前記液体生物学的サンプルの毛管流を阻害する、請求項1の装置。

【請求項3】 前記サンプル塔が前記サンプル域の上に位置しており、前記サンプル口が前記サンプル塔の上端に位置し、そして前記オリフィスがその下端に位置している、請求項2の装置。

【請求項4】 液体生物学的サンプルを含有しそしてそれで生物学的プロセスを行うための装置であって、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域；前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域；前記反応域及び前記サンプル域と空気連絡している空気域；前記装置を空気吸引／送出手段につなぐための前記空気域内の空気口であって、前記吸引／送出手段が前記サンプル域と前記反応域の間で前記液体生物学的サンプルの流れを起こさせる空気口；導入されるべき液体生物学的サンプルを前記サンプル域内に入れるための前記サンプル域と流体連絡しているサンプル送入手段；及び前記サンプル送入手段と前記サンプル域の間に前記流体連絡を提供するための及び前記サンプル域から前記反応域への前記液体生物学的サンプルの毛管流を阻害して前記サンプル域からの前記サンプルの取り出しを容易にするための、前記サンプル送入手段と前記サンプル域の間の制限オリフィス；を含む装置。

【請求項5】 液体生物学的サンプルを含有しそしてそれで生物学的プロセスを行つたための、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域；前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域；前記反応域及び前記サンプル域と空気連絡している空気域；及び前記装置を空気吸引／送出手段につなぐための前記空気域内の空気口であって、前記吸引／送出手段が

前記サンプル域と前記反応域の間で前記液体生物学的サンプルの流れを起こさせる空気口；を含む装置であつて、

前記サンプル域と前記反応域が、前記液体生物学的サンプルが液体小塊の形で流れる連続溝の形で与えられており、そして液体流の方向に伸びている前記溝の少なくとも1の隅が前記液体生物学的サンプルの毛管流を減少させるためにまるくなっている装置。

【請求項6】 液体生物学的サンプルを含有する装置で10あって、前記液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、前記反応域及び前記サンプル域と空気連絡している空気域、及び前記空気域内の空気口を含む装置；並びに前記液体生物学的サンプルを前記サンプル域と前記反応域の間に流すために前記空気口と接触させられるように作られた空気吸引／送出手段；を含む生物学的プロセスを行うための系であつて、前記装置の前記空気口が少なくとも1の硬質シールリングにより囲まれ、そして前記空気吸引／送出手段が前記20シールリングとの接触により変形して前記空気口の周囲に空気シールを生み出すように作られた弾力部分を有する系。

【請求項7】 生物学的プロセスを行う方法であつて、液体生物学的サンプルを含有するための装置であつて、前記液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、前記反応域及び前記サンプル域と空気連絡している空気域、及び前記装置を空気吸引／送出手段につなぐための前記空気域内の空気口を含む装置を提供し；液体生物学的サンプルを前記サンプル域内に導入し；前記吸引／送出手段を用いて前記液体生物学的サンプルを前記サンプル域と前記反応域の間に流れさせ；そして前記サンプル域と周囲大気の間に湿度勾配を与えることによって前記サンプル域と前記反応域からの前記液体生物学的サンプルの蒸発を阻害する；段階を含む方法。

【請求項8】 生物学的プロセスを行う方法であつて、液体生物学的サンプルを含有するための装置であつて、前記液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、前記反応域及び前記サンプル域と空気連絡している空気域、及び前記装置を空気吸引／送出手段につなぐための前記空気域内の空気口を含む装置を提供し；液体生物学的サンプルを前記サンプル域内に導入し；前記液体生物学的サンプルを前記サンプル域から前記反応域に流れさせて前記反応域内で反応を受けさせ；前記液体生物学的サンプルを前記反応が完了した後に前記装置から取り出すために前記反応域から前記サンプル域に逆に流れさせ；そして前記サンプルを前記サンプル域に逆に流しながら、前記サンプルの少なくとも一部分を制限オリフィスに通過させることにより前記サンプル域から前記反

応域への前記液体生物学的サンプルの毛管流を阻害して、前記サンプル域からの前記サンプルの取り出しを容易にする；段階を含む方法。

【請求項9】 生物学的プロセスを行う方法であって、液体生物学的サンプルを含有するための装置であって、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、及び前記装置を空気吸引／送出手段につなぐための前記空気域内の空気口を含み、前記サンプル域及び前記反応域が前記液体生物学的サンプルが液体小塊の形で流れる連続溝の形で与えられており、前記溝が液体流の方向に伸びている少なくとも1の隅を有する装置を提供し；液体生物学的サンプルを前記サンプル域内に導入し；前記吸引／送出手段を用いて前記液体生物学的サンプルを前記サンプル域と前記反応域の間に流れさせ；そして前記溝の前記隅における液体蓄積を阻止して前記液体生物学的サンプルの毛管流を減少させる；段階を含む方法。

【請求項10】 生物学的プロセスを行う方法であって、液体生物学的サンプルを含有するための装置であって、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、前記サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、前記反応域及び前記サンプル域と空気連絡している空気域、及び前記装置を空気吸引／送出手段につなぐための前記空気域内の空気口を含む装置を提供し；前記液体生物学的サンプルを前記サンプル域と前記反応域の間に流すための空気吸引／送出手段であって、前記空気口とシール接触させるように作られた弾力部分を有する空気吸引／送出手段を提供し；液体生物学的サンプルを前記サンプル域内に導入し；前記空気吸引／送出手段の弾力部分を前記空気口とシール接触させ；そして前記液体生物学的サンプルを前記サンプル域と前記反応域の間に流れさせるように前記空気吸引／送出手段を作動させる；段階を含む方法。

#### 【発明の詳細な説明】

【0001】この出願は、1994年3月14日に出願された“Nucleic Acid Amplification Method and Apparatus”という表題の Hugh V. Cottingham らの同時係属中の米国特許出願第08-213304号の一部継続出願であって、この第08-213304号の開示内容は参照により明白にここに組み入れられる。

#### 【0002】

【関連出願】関連する主題が、本願と同日に出願された“System for Nucleic Acid Based Diagnostic Assay”という表題の Allen S. Reichler らの同時係属中の特許出願及び本願と同日に出願された“Pipette Tip”という表題の Michael L. Lamos らの同時係属中の米国特許出願に開示されている。前記両出願は参照により明白にここに組み入れられる。

#### 【0003】

【発明の属する技術的分野】本発明は、核酸増幅の如き生物学的プロセスを行うのに有用な装置に関し、特定的には、汚染アンブリコンが除去されるか又は破壊される汚染除去段階及び標的核酸セグメントの数が増える増幅段階を含む生物学的プロセスを行うのに有用な单一装置又はモジュールに関する。

#### 【0004】

【従来の技術】生物学的プロセスは、臨床診断アッセイに利用されることが多い。しかしながら、それらプロセスの諸段階は、実験室の異なる場所で及び／又は異なる容器 (vessels or containers) 内で行われるのが頻繁であり、このことにより、生物学的サンプル及び試薬を移送する必要が生じて他の臨床サンプルとの汚染の危険性が増えている。

【0005】汚染の危険性は、そのプロセスが、核酸（標的核酸）の一本のストランドを数百万のコピー（アンブリコン）に増加させることができるストランド追い出し増幅 (strand displacement amplification) (SDA) 又はポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) の如き核酸増幅反応を含む場合は特に心配な事柄である。核酸増幅反応は、臨床検査室において途方もなく大きな潜在的有用性があるが、前の増幅反応の増幅産物（アンブリコン）で容易に汚染され得る。かかる汚染アンブリコンは、続いて、臨床検査室に入ってくる新たなサンプルを汚染し、その汚染されたサンプルにおいて検出される基質に鑑し誤った陽性の指示（即ち、不正確な診断）をもたらす。

【0006】アンブリコン汚染の問題は、幾つかの汚染除去技術の開発をもたらしてきた。効果的であるためには、これら汚染除去技術では、一般に、その方法の汚染除去段階が増幅段階の前に存在することにより、汚染性アンブリコンが増幅段階中の標的核酸として認識されるであろう可能性を大きく低下させることが必要である。

【0007】汚染除去試薬及び増幅試薬は、互いに適合しないことが多いので、それら自身の反応条件が必要となり得る。時々、汚染除去及び増幅のための試薬を混合すると、それらは互いを不活性化することである。更には、1つの容器中で汚染除去反応を行いそして汚染除去したサンプルを増幅用のもう1つの容器に移すことは、40 そのサンプルを移す間に再汚染されてしまう可能性が高いので、実行できる選択ではない。

【0008】前述の Hugh V. Cottingham らの“Nucleic Acid Amplification Method and Apparatus”という表題の同時係属中の特許出願では、汚染除去及び増幅が单一の装置又はモジュールの範囲内で行えるようにすることによってこれら問題を軽減又は排除する装置が記載されている。一般に、その開示された装置は、液体生物学的サンプルの導入及び取り出しのためのサンプルウェル、該サンプルウェルと流体連絡した少なくとも1の反応室、該反応室及び該サンプルウェルと空気連絡した空

気室、及び該装置を空気吸引／送出手段につなぐための空気室内の空気口を含む。この空気吸引／送出手段を作動させると、液体生物学的サンプルがサンプルウェルと反応室の間を制御されて流れるようになる。好ましい態様においては、この装置は、概して細長い形状をしており、サンプルウェルと空気口が相対する端にあり、そして反応室がその間にいる。汚染除去反応及び增幅反応に必要な試薬は、その反応室内の別々の位置に離れて添えられている。

【0009】上記の装置では、微小溝の形の液体流制御手段を用いて、液体生物学的サンプルがサンプルウェルと反応室の間を流れるのを制御し、そして1より多くの反応室が与えられている場合には、諸反応室自体の間を流れるのを制御する。所望の液体流制御機能を行うのに加えて、この微小溝は、汚染除去段階及び增幅段階の間に液体生物学的サンプルが装置から蒸発するのを減少させもする。用いられる液体生物学的サンプルが比較的小量（典型的には約5.5マイクロリッター）で、比較的高い温度（80°Cまで）がそのプロセスの一定の部分の間に用いられ、そして汚染除去反応及び增幅反応を完了させるだけの長さの時間（それぞれ約1時間及び約2時間）が要求されると仮定すると、サンプルの蒸発は大きな問題となり得る。極端な場合には、蒸発の程度が相当なものなので、汚染除去段階及び增幅段階が完了した後に回収してアッセイするには不十分な量の液体生物学的サンプルが残っているだけということにもなり得る。しかしながら、正確に寸法を測った微小溝では、蒸発損失の問題を抑えることができる。

【0010】不運にも、微小溝は、それらの利点にも拘らず、むしろ厳密な寸法公差を必要とするので製造するのが難しい。前述の Hugh V. Cottingham らの同時係属中の特許出願に開示されているように、連続反応室間の流れ制御は、液体生物学的サンプルを装置内に単一の非分割単位（小塊）として流すことにより、微小溝を使用しないでも可能である。しかしながら、微小溝は、一部にはサンプルウェルから空気口にかけての蒸発損失を減少させるために、依然として装置の両端に保持されている。理想的には、これら残っている微小溝の一方又は両方を取り除いて、装置の設計及び製造を更に簡略化することが望ましい。

【0011】蒸発損失の他に、装置から微小溝を取り除いた場合に起こり得る1つの问题是、空気吸引／送出手段が作動しない間隔の間に液体小塊の流れが制御されないこと又は移動することである。これは、少なくとも部分的に、装置の内部の隅又は縁で生成する液体の薄い流れから生じると考えられ、これら流れがそれら流れの方向に小塊を引き寄せる毛管引力を発するものと考えられる。微小溝の遮断作用がなければ、この毛管流現象が装置内の小塊の位置を制御するのを難しくし得る。例えば、サンプルウェルと反応室（又は諸反応室）の間の微

小溝を取り除くと、液体生物学的サンプルが空気吸引／送出手段によりサンプルウェル内に押し込められた後に、毛管流がその液体生物学的サンプルをサンプルウェルから反応室に戻し得る。これは、汚染除去段階及び增幅段階が完了した後にアッセイ用のサンプルを回収するのを困難にするか又は不可能にする。

【0012】前述の Hugh V. Cottingham らの同時係属中の米国特許出願に記載された装置には、空気吸引／送出手段のピペットとの空気シールを形成するために

10 “O” リングの如きシール装置が装置の一端において空気口の回りに配置されている。この配置は効果的なシールを生み出すが、別に “O” リングが必要になるために、装置の設計及び製作を複雑なものにするのでそのコストが増す。理想的には “O” リング又は他の別のシール装置を必要とすることなく、空気吸引／送出手段で効果的なシールを作り出して、汚染除去装置及び增幅装置の全ての部品を同じ材料から作られるのが望ましいであろう。

【0013】

20 【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、汚染除去プロセス及び增幅プロセスの間の液体生物学的サンプルの過剰な蒸発を起こすことなく微小溝及び類似のタイプの流れ制御手段を所望により削除することができる、生物学的プロセスを行うための装置を提供することである。

【0014】本発明の他の目的は、微小溝及び類似の流れ制御装置を必要とすることなく液体小塊の位置について向上した制御を得ることができ、そして液体小塊の毛管流の問題が軽減又は排除された、生物学的プロセスを行うための装置を提供することである。

30 30 【0015】本発明の更なる目的は、空気吸引／送出手段で効果的なシールを作り出すのに別の “O” リング又は他のバラ・バラのシール装置を必要としない、生物学的プロセスを行うための装置を提供することである。

【0016】本発明のなお更なる目的は、生物学的プロセスを行うための方法であって、ここに開示しあつ特許請求した例示的装置を用いて行うことができる方法を提供することである。

【0017】

40 【課題を解決するための手段】本発明の一側面によれば、液体生物学的サンプルを含有しそしてそれで生物学的プロセスを行うための装置は、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、該サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、及び該反応域及び該サンプル域と空気連絡している空気域を含む。このサンプル域は、液体生物学的サンプルをサンプル域に入れるためのオリフィスを有する。この空気域には、この装置を空気吸引／送出手段につなげるようにする空気口が備えられており、それは液体生物学的サンプルをサンプル域と反応域の間に流れさせるのに有効である。この装置は、

液体生物学的サンプルのサンプル域及び反応域からの蒸発を減少させるために、サンプル域と流体連絡しているサンプル塔も含む。このサンプル塔は、液体生物学的サンプルをこの装置に入れるためのサンプル口を有する。本発明の好ましい態様においては、空気域は、空気域を通る液体生物学的サンプルの蒸発を減少させるために、類似の塔を含むことができる。

【0018】本発明の他の側面においては、液体生物学的サンプルを含有しそしてそれで生物学的プロセスを行うための装置は、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、該サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、及び該反応域及び該サンプル域と空気連絡している空気域を含む。この空気域には、この装置を空気吸引／送出手段につなげるようにする空気口であつて、液体生物学的サンプルをサンプル域と反応域の間に流れさせる空気口が備えられている。この装置は、サンプル域内に導入されるべき液体生物学的サンプルを入れるための、サンプル域と流体連絡しているサンプル送入手段も含む。このサンプル送入手段とサンプル域の間には、それらの間に流体連絡を提供するための及び液体生物学的サンプルのサンプル域から反応域への毛管流を阻害するための制限オリフィスが、サンプル域からのサンプルの取り出しを容易にするために備えられている。このサンプル送入手段は、先に記載したタイプのサンプル塔を含むことができる。

【0019】本発明の更なる側面においては、液体生物学的サンプルを含有しそしてそれで生物学的プロセスを行うための装置は、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、該サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、及び該反応域及び該サンプル域と空気連絡している空気域を含む。この空気域には、この装置を空気吸引／送出手段につなげるようにする空気口であつて、液体生物学的サンプルをサンプル域と反応域の間に流れさせる空気口が備えられている。このサンプル域と反応域は、液体生物学的サンプルが液体小塊の形で流れる連続溝の形で備えられている。液体流の方向に伸びるその溝の少なくとも1の隅は、液体生物学的サンプルの毛管流を少なくするためにまるくなっている。本発明の好ましい態様においては、この溝は液体流の方向に伸びる2の上方縁部を有し、そしてその溝の上方縁部の両方は液体生物学的サンプルの毛管流を少なくするためにまるくなっている。

【0020】本発明のなおも更なる側面においては、生物学的プロセスを行うためのシステムは、液体生物学的サンプルを含有するための装置及び該装置内でのサンプルの流れを制御するための空気吸引／送出手段を含む。この装置は、液体生物学的サンプルを受けるためのサンプル域、該サンプル域と流体連絡している少なくとも1の反応域、該反応域及び該サンプル域と空気連絡している空気域、及び該空気域内の空気口を含む。空気吸引／

送出手段は、空気口と接触して液体生物学的サンプルをサンプル域と反応域の間に流れさせるように作られている。この装置の空気口は、少なくとも1の硬質シールリングにより周りを囲まれており、そして空気吸引／送出手段は、そのシールリングとの接触により変形して空気口の周りに空気シールを生み出すように作られている弾力部分を有する。本発明の好ましい態様においては、この空気吸引／送出手段は硬質の吸引／送出ピペットを含み、そして弾力部分はこのピペットに貼り付く弾力チップを含み、この弾力チップ内の開口部はピペットの内空と連絡していてこの装置の空気口と連絡するように作られている。

【0021】添付の図面と関連付けて読めば、以下の詳細な説明から本発明の種々の目的、効果及び新規な特徴がより容易に分かるであろう。

【0022】図1は、本発明による装置の1態様の透視図である。

【0023】図2は、図1に示した装置の側面図である。

【0024】図3は、図2に示した装置の左端図である。

【0025】図4は、図2に示した装置の右端図である。

【0026】図5は、図2に示した装置の上部平面図である。

【0027】図6は、図1～5に示した装置の分解組立図であつて、装置の底が超音波で溶接されたプラグ又はインサートにより閉じられている様子を示すものである。

【0028】図7は、図5の線7-7に沿った断面図であつて、装置の内部形状を示すものである。

【0029】図8は、図7の線8-8に沿った断面図であつて、サンプル域の詳細を示すものである。

【0030】図9は、図7の線9-9に沿った断面図であつて、空気域の詳細を示すものである。

【0031】図10は、図9の空気域の上方部分の拡大断面図であつて、空気口の周りに形成された同軸シールリングを示すものである。

【0032】図11は、図7の線11-11に沿った断面図であつて、装置の反応域の横断面の形状を示すものである。

【0033】図12は、図11の反応域の1下方縁部の拡大断面図であつて、底部プラグ又はインサートが装置内に受け入れられている様子を示すものである。

【0034】図13及び14は、それぞれ、図1～12の装置内の液体生物学的サンプルの流れを制御するのに用いられる空気吸引／送出手段の一部分の断面図と分解組立図である。

【0035】図15～31は、図7の断面図と類似の側面断面図であつて、液体生物学的サンプルがサンプル域

から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れ、そして空気吸引/送出手段の制御下にサンプル域に戻っていく様子を示すものである。

【0036】図32は、図1~12の装置におけるサンプル塔の高さと蒸発損失の間の関係を示すグラフである。

【0037】図面全体を通して、同じ符号は同じ部分及び部品を指示することが理解できるであろう。

【0038】上述のように、本発明は、生物学的プロセスを行うための方法及び装置を提供する。概説すると、本発明の1つの態様は、その中に形成されたサンプル域及び少なくとも1の反応域を含む装置を提供する。反応域は、サンプル域と流体連絡している。生物学的プロセスの諸段階を反応域内の異なる部位又はゾーンで行うことができる。

【0039】汚染除去段階及び増幅段階を含む生物学的プロセスで用いるのに相応しい1つの態様では、反応域の汚染除去ゾーンはサンプル域と流体連絡しており、反応域の増幅ゾーンは汚染除去ゾーンと流体連絡している。アンブリコン汚染除去試薬は汚染除去ゾーン内に存在しており、核酸増幅試薬は増幅ゾーン内に存在している。使用中に、核酸を含有する液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーンの中に移動してゆき、そこで液体サンプルが汚染除去試薬と接触してサンプル中のアンブリコンが分解される。次いで、その液体サンプルは汚染除去ゾーンから増幅ゾーンまで移動して増幅試薬と接触し、かくしてそのサンプル中にアンブリコンが生成する。次いで、その液体サンプルは増幅ゾーンから汚染除去ゾーンを通過してサンプル域まで移動し、そこでサンプルを抜き取ることができる。サンプルの移動はどのような適する空気手段によって行って行ってもよく、そしてサンプルをどのような適するピッティング手段によって抜き取ってもよい。

【0040】サンプルを抜き取つたら、サンプル中のアンブリコンの存在をどのような適する手段によって検出してもよく、例えば、それらアンブリコンに結合する核酸プローブであつて検出可能な基（例えば、酵素、放射性同位元素など）で標識されたプローブで全て既知の技術に従つて検出することができる。また、装置内に追加の区域及び追加の試薬を含めることによって検出段階が *in situ* で行えるように装置を形造つてもよい。

【0041】本発明による汚染除去及び増幅装置50の好ましい態様は、図1~12に示されている。とりわけ図1の透視図を参照すると、装置50は大体において長く伸びた直方体のような形状をし、その両端に高くなつた又は立ち上がつた塔52及び54があり、長く伸びた直方体ボディ部分56がそれら塔の間に伸びており、そしてボディ部分56よりも幾分幅広のベースフランジ58がある。この装置は、長さ約1.669インチ(4.239センチ)、幅約0.304インチ(0.772セ

ンチ)及び高さ約0.165インチ(0.4191センチ)（塔52及び54を除く）の計画外寸法を有する。ベースフランジ58はその右端59が約0.150インチ(0.381センチ)の半径であるくなっているが、このベースフランジの左端61は真っ直ぐになっている。これは、装置50が自動核酸アッセイ中に送りトレイ（示していない）内で確実に所望の方向に位置付けされるように、図5及び6に示すように、この装置に平面で非対称の傾斜又は曲線を与えている。（“System for Nucleic Acid Based Diagnostic Assay”という表題のAllen S. Reichlerらの前述の同時係属中の米国特許出願のトレイ及び自動アッセイ操作の説明を参照のこと。）塔52は、フランジ58の底面から約0.450インチ(1.143センチ)の高さを有し、そして塔54は同じ面から測つて約0.320インチ(0.813センチ)の高さを有する。この装置の壁は約0.040インチ(0.102センチ)の厚さである。この装置50は、約55マイクロリッター(μL)の容量を有する液体生物学的サンプルを受けるよう設計されている。当業者は認識するであろうが、装置50の寸法は上に記載したほど具体的である必要はないので、所望のサンプル容量及び他の要因に依存して大幅に変動することができる。しかしながら、諸寸法の変動の一般的ガイドラインは、上に具体的に記載した寸法により表されるのと大体同じの諸寸法間の比率を維持することである。

【0042】図7に最も明瞭に示されているように、装置50の長く伸びた直方体ボディ部分56は、液体生物学的サンプル（示していない）を含有するための及びそのサンプルで所望の生物学的プロセスを行うための幾つかの区域又はゾーンの境界を定める内部溝60を含む。好ましい態様においては、装置50の寸法及び材料は、液体生物学的サンプルが外部からかけられる空気吸引又は空気送出の制御下に溝60の種々の区域又はゾーンを、それら区域又はゾーンの間に遮断壁又は隔壁を必要とすることなく、単一の非分割単位又は小塊として移動するように選ばれる。これは、溝60の寸法を適切に選ぶことにより及び装置50と液体サンプルの表面間を90°よりやや大きいか又は等しい接触角を維持する非潤滑性材料（ポリプロピレンの如きのもの）から装置50を作ることにより行うことができる。この示した態様においては、図1に示すように、溝60は、横断面が約0.085インチ(0.216センチ)の高さで約0.125インチ(0.318センチ)の幅の凡そ長方形である。図7の溝60の最も左の域62は、液体生物学的サンプルの導入及び抜き取りのためのサンプル域としての役目を果たす。このサンプル域は、溝60内で約0.4インチ(1.02センチ)の長さと約65μLの容量を有する。サンプル域62の一端は、図1の装置50の円い左端64に対応してまるくなっている。液体生物学的サンプルは、塔52を通過してサンプル域62の中に

(典型的にはピペットによって)導入される。この塔をサンプル塔と言う。サンプル塔52は、サンプルを装置50の中に入れるためのサンプル口66をその上端に有し、サンプル域62との流体連絡を提供するオリフィス68をその下端に有する。図7のサンプル域62の右に、溝60は反応領域72と呼ぶ箇所の第1部分を構成する汚染除去ゾーン70の境界を定めている。この反応域72は、サンプル域62の右端と垂直壁74の間の溝60の全ての体積を占めており、好ましい態様においては、約0.93インチ(2.36センチ)の長さと約150μLの容量を有する。汚染除去ゾーン70は、反応域の長さ(約0.4インチ(1.02センチ))の約半分とその容量(約65μL)の約半分を占めている。汚染除去ゾーン70内に含有されているのは、汚染除去反応に必要な核酸汚染除去試薬76である。汚染除去試薬76(上記の汚染除去反応に必要な活性成分)は、汚染除去のどのような適する手段に要求されるものであってもよい。汚染除去試薬76はどのような適する形態であってもよく、乾燥フィルム、凍結乾燥ペレット又は試薬を含浸させた紙の如き固体が含まれるが、それらに限定されない。本発明の好ましい態様においては、汚染除去試薬76は、乾燥形態で溝60の上部内表面に図7のベースフランジ58の左端から0.60インチ(1.52センチ)点と0.80インチ(2.03センチ)点の間の位置に配置されかつ接着されている。この乾燥汚染除去試薬76の位置は図1、2、5、6、7及び11に見ることができる。汚染除去試薬76を乾燥する好ましい方法は、米国特許第4891319号及び特許協力条約国際公開第WO87/00196号に教示されているように試薬をトレハロースの存在下で乾燥することである。これら両特許はQuadrant Bioresources Limitedにより所有されておりそして参照によりここに組み入れられるものとする。簡単に説明すると、好ましい乾燥方法は、生物学的物質を乾燥中の変性から保護し、そしてその生物学的物質を含有する水性系をその水性系の総重量を基準にして約0.05~20重量%の量のトレハロースの存在下で凍結温度よりも高い温度にさらすことを包含する。トレハロースは、 $\alpha$ -D-グルコピラノシル- $\alpha$ -D-グルコピラノシドとしても知られる天然に存在する非還元性二糖類である。トレハロースの存在下での乾燥は、好ましくは大気圧での単なる風乾であってもよい。汚染除去試薬76(及び間もなく記載する増幅試薬)の乾燥では、トレハロースが試薬の化学的安定性を有意に増す。従って、トレハローステクノロジーは、この装置で用いられるあらゆる試薬の乾燥にとって優れたシステムである。

【0043】図7の汚染除去ゾーン70の右に、溝60は、反応域72の第2部分を形成する増幅ゾーン78の境界を定めている。本発明の好ましい態様においては、溝60の増幅ゾーン78は、長さが約0.55インチ

(1.40センチ)であって約90μLの容量を有する。増幅ゾーン78内に含有されているのは、増幅反応に必要な1又は複数の試薬80である。この増幅試薬80は、上記のように、どのような適する核酸増幅反応に要求される活性物質であってもよい。本発明の好ましい態様においては、用いる増幅方法はストランド追い出し増幅である。汚染除去試薬76と同じく、増幅試薬80はどのような適する形態であってもよく、乾燥フィルム、凍結乾燥ペレット、又は試薬を含浸させた紙の如き固体が含まれるがそれらに限定されない。増幅試薬80は、上で説明したように、特に検出がin situで行われる場合、生ずるアンブリコンの検出に必要なプローブの如き活性物質を場合により含むことができる。もちろん、増幅試薬80は、汚染除去試薬76と同じ形態で与えられる必要はなく、汚染除去試薬76中に部分的に含められてもよい。本発明の好ましい態様においては、図7に示すように、1又は複数の増幅試薬80は、乾燥形態で溝60の上部内面に配置されかつ接着されている。1又は複数の増幅試薬80の好ましい位置は、図7のベースフランジ58の左端から測って1.00インチ(2.54センチ)点と1.20インチ(3.05センチ)点の間である。汚染除去試薬76の乾燥にとって好ましいトレハローステクノロジーは、増幅試薬80の乾燥にとっても好ましい。

【0044】示したように連続の非分割溝の形でサンプル域62と反応域72を備えることが好ましいが、所望によりこれら区域間に隔壁又は遮断壁を備えることは本発明の範囲内に属する。反応域72の汚染除去ゾーン70と増幅ゾーン78の間に隔壁又は遮断壁を備えることも本発明の範囲内に属する。これら隔壁又は遮断壁の幾つか又は全て(もし備えられているなら)は、同時係属中の米国特許出願第08/213304号に記載されたタイプの微小溝又は他のタイプの流れ制御装置を含むことができる。

【0045】反応域72の増幅ゾーン78は、壁74と溝60の底壁を形成するプラグ又はインサート86の上面との仮想上の接合点により作り出される微小溝84によって空気室82と連絡している。微小溝84を作っている壁74とプラグ又はインサート86の上面との間の間隙は、好ましくは高さが約0.006インチ(0.015センチ)であって、溝60の横幅をその両側から横切って途中まで伸びている。しかしながら、図4、6及び9で最もよく見えるように、微小溝84の中間部分は壁74内に形成された半円アーチ88によって拡大して、約0.025インチ(0.064センチ)の半径を有する。微小溝84は、空気室82への液体生物学的サンプルの進入を実質的に阻止する一方、溝60の中の液体生物学的サンプルの移動を制御するという目的で溝60との空気連絡を可能にする液体流制御手段としての役目を果たす。微小溝84とそれが隣接する溝60の区域

の間で高さが急激に増すと、装置50を作っている材料の潤滑特性と合わせて、毛管力及び静水力に起因して液体が流れるのが本質的に阻止される。微小溝84は、空気室82を通る液体生物学的サンプルの蒸発損失も減少させる。微小溝84に半円アーチ又はドーム88を附加すると、微小溝84が濃縮の結果又は製造中に塞がった場合に、反応域72と空気室82の間の空気連絡が確保される点で有利である。

【0046】空気室82の詳細は、図2、4、7及び9から最もよく分かる。一般に、空気室82は下方部分90と上方部分92を含み、上方部分92は塔54により囲まれている。塔54をここでは空気塔と言うことにして、その目的は間もなく説明する。空気室82の下方部分90は、長さが約0.13インチ(0.33センチ)、幅が約0.125インチ(0.318センチ)そして高さが約0.85インチ(2.16センチ)であって、後者の寸法は溝60の寸法と大体同じである。下方部分90は、一端において微小溝84の境界を定めている真っ直ぐな壁74が境界となっており、他端においては装置50のまるくなつた右端94が境界となっているので、平面図として見たときに先端を切り取った

“U”字型を有している。装置50の垂直壁は好ましくは底部から頂部にかけて僅かに内側に向かって約2°の通減度を有するので、空気室82の下方部分90の曲がった又はまるくなつた部分は、僅かに円錐台-円錐の形状(frusto-conical)を有している。空気室82の上方部分92は、平面図で見たときは横断面が円形である。やはり、底部から頂部にかけて僅かに内側に向かって約2°の通減度を有して、僅かに円錐台-円錐の形状を有している。上方部分92は、約0.150インチ(0.381センチ)の高さを有し、底部から頂部にかけて約0.147インチ(0.373センチ)から約0.125インチ(0.318センチ)まで直径が変化する。空気室の上方部分92の頂部は、空気口96で周囲大気と連絡していて、形状が円筒形であって約0.032インチ(0.081センチ)の直径を有する。以下でより詳しく説明するように、空気口96は、溝60内の液体生物学的サンプルの流れを制御するために装置50を空気吸引/送出手段につなげるようになっている。

【0047】空気室82の容量は、上方部分92及び下方部分90を含めて、約35μLである。サンプル域62及び反応域72の汚染除去ゾーン70と増幅ゾーン78それぞれの場合におけるように、空気室82の容量及び寸法は、特定の用途の要件に応じて変動することができる。

【0048】図10は、空気塔54の上方部分の横断面図であって、空気口96の周りに備えられた新規なシール集成装置を示すものである。このシール集成装置は、空気口96の上端を開む一対の硬質同軸円形シールリング98及び100を含む。シールリング98及び100

は好ましくは空気塔54と一体化していて、装置50の残りの部分と同じ材料(好ましくは、射出成形ポリプロピレン)でできている。後でより詳しく説明するように、同軸シールリング98及び100は、空気吸引/送出手段(示していない)が空気塔54の頂部と接触すると、その空気吸引/送出手段により保持されている弾力チップ又はカラーを変形させる役割を果たす。これは、装置50自体の上に装着される“O”リング又は他のタイプの弾力シール装置を必要とすることなく、空気口96の周りに効果的な空気シールを生み出す。このことが装置50の設計及び構成を簡単にしてそのコストを低減するのである。好ましい態様においては、同軸シールリング98及び100は、空気口96の出口平面102の上に約0.010インチ(0.025センチ)の高さを有する。シールリング98の直径は約0.078インチ(0.198センチ)であり、シールリング100の直径は約0.182インチ(0.462センチ)であって、両シールリングは空気口96の中心軸103に関して同軸である。各シールリングの高くなつた縁又はリム20は、約0.005インチ(0.013センチ)の半径の大体半円形の断面を有し、これら2つのシールリング98及び100は、これら2つの高くなつたシールリングの間に穏やかな凹型曲線を形成する環状くぼみ104により離されている。これら2つのシールリング98及び100は、所望により1個のシールリングにより置き換えててもよい。しかしながら、2つの同軸シールリング98及び100を用いるのが好ましい。というのは、空気口96と空気吸引/送出手段の間の空気シールが向上するので、シールの一体性に実質的に影響を与えることなく、これら2構成部品間のある程度の不具合が許されるからである。

【0049】サンプル塔52の詳細は、図1～3、7及び8から分かる。サンプル塔52は、示すように、全体に高くなつた又は立ち上がつた形状を有しており、円形の横断面及び底部から頂部にかけて僅かに内側に向かつて(好ましくは約1°の角度で)細くなつて円錐台-円錐の形状をもたらす外壁を有している。サンプル塔52の内壁106は、サンプル口66とオリフィス68の間で反対方向に(即ち、頂部から底部にかけて内側に向かって、やはり約1°の角度で)細くなっている。かくして、サンプル塔52の内部は逆円錐台-円錐の形状を有している。このことで、サンプル塔52は、液体生物学的サンプル(典型的にはピペッタによりサンプル口66から導入される)をサンプル域62と連絡しているオリフィス68に向けるための漏斗として本質的に機能できるのである。オリフィス68は形状が円形であり、そしてサンプル塔52の円形横断面とぴったり合っている。しかしながら、間もなく説明する理由のために、オリフィス68の直径は、サンプル域62とサンプル塔52の隣接部分の直径よりも小さい。好ましい態様においては、

オリフィス68は約0.080インチ(0.203センチ)(溝60の内高より僅かに小さく、その幅よりもかなり小さい)の直径を有する一方、サンプル塔52の下方内部部分は約0.11インチ(0.28センチ)の直径を有する。45°ベベル108で、サンプル塔52の下方内部部分とオリフィス68の間を円滑に移行できる。そしてピペットがサンプル口66の中に円滑に入れるように、類似の45°ベベル110がサンプル塔52の頂部に形成されている。ベベル108及び110は、サンプル塔52の傾斜内壁106と一緒にになって、液体生物学的サンプルを導入又は抜き取るためにピペットをサンプル塔52の中に挿入してオリフィス68に通すときに起こり得る僅かな不具合を修正するのに有用である。かかる不具合の修正は、ピペットを手動というよりもしろロボットで操作する場合に特に重要である。というのは、ロボットでの操作は、それ自身ではかかる不具合を検出して修正することが一般にはできないからである。

【0050】図6は、装置50が組み立てられる様子を示している。一般に、装置50は2つの部分を含み、その第1は塔52及び54、長く伸びた直方体ボディ部分56及びベースフランジ58を含む上側部分112であり、そしてその第2部分は底部プラグ又はインサート86である。部分112及び86それぞれは、ポリプロピレンの如き射出成形されたプラスチック材料からできており、これら2つの部分は、超音波溶接により一緒に接合されて单一の一元的装置50を形成する。装置50の上側部分112は、下方に面する45°ベベル116を有する開口部118を有する。図12に示すように、開口部118はその下端で外側に向かって曲がっているので、プラグ又はインサート86よりも僅かに大きい。これは、超音波溶接の前にプラグ又はインサート86を開口部118と合わせ易くする穏やかな引込面を提供する。また、プラグ又はインサート86の縁部と開口部118の外周の間にできる間隙は、溶融又は軟化したプラスチック材料のリッジ又は突起がこれら表面が合わさる所で超音波溶接中に時々形成され得るのを阻止する。超音波溶接方法の性質はそうしたものなので、溶接は主としてベベル116とプラグ又はインサート86の鋭い上方の隅又は縁114との間で起こるであろう。溶接中、上側部分112及びプラグ又はインサート86のプラスチック材料は、隅114とベベル116との接合点で瞬時に溶融してそれらの境界がなくなる。プラグ又はインサート86は、好ましくは、図12に示すように、プラグ又はインサート86の底面が確実にいつも装置50の最下面になるように、それを受け入れる上側部分112内の対応する開口部118よりも僅かに(約0.010インチ(0.025センチ)だけ)厚い。装置50を用いて核酸汚染除去及び増幅プロセスを行うときに普通にるように、装置50を熱盤上に載せると、これで熱盤

がプラグ又はインサート86と確実に良好な熱接触状態となり、熱を溝60内に含有される液体生物学的サンプルに効率的に伝えることができる。

【0051】図11に示すように、液体生物学的サンプルの流れ方向に伸びている溝60の上方の隅120は穏やかにまるくなっている、好ましくは約0.040インチ(0.102センチ)の半径である。これは、液体生物学的サンプルの毛管流を誘発するであろう隅が鋭い溝を回避するものである。以下の説明から分かるように、10 核酸汚染除去プロセス及び増幅プロセスを行うために装置50を使用している間、液体生物学的サンプルが溝60の高さ方向全体を満たす。従って、溝60の上方部分の形状は、この装置の性能に重要な関係を有する。所望により、溝60の下方縁部に沿ってまるい隅を設けるという対策を講じてもよい。とはいって、これは溝60の下方部分が別々のプラグ又はインサート86により閉じられていると仮定するとやや難しい。装置50の直方体ボディ部分56を一体型円筒管と置き換えることにより、溝60における隅を全体的に避けることができる。しかしながら、この方法での組立は望ましくない毛管流を減少させる点で有利であるが、製造するのがより難しい。

【0052】図1~12の装置50の好ましい態様においては、溝60の形状因子は、反応域72の頂部での空気の閉じ込めが減少するか又はなくなるように、及び液体生物学的サンプルの装置内でのバラバラで正確で予測可能な位置付けに寄与する直線的輪郭を生じるように選ばれる。特に、汚染除去ゾーン70の長さは溝60の高さよりも大きくあるべきであり、そして同じことを増幅ゾーン78に当てはめるべきである。この形状因子(即ち、長さが高さより大きいこと)で、空気が汚染除去ゾーン70又は増幅ゾーン78の頂部で閉じ込められないことが確実になり、従って、これらゾーン内のそれぞれの試薬76及び80が液体生物学的サンプルに十分に曝されるのが確実になる。

【0053】溝60の形状因子は、液体生物学的サンプルの蒸発損失が最小になるように選ばれる。これは、液体小塊の長さがその幅又は高さよりも実質的に大きくなるように溝の寸法を選んで、小塊のいずれかの相対的に小さな正面域だけが空気に曝されることによって達成することができる。本発明の好ましい態様においては、約0.125インチ(0.318センチ)の幅と約0.085インチ(0.216センチ)の高さを有する溝60中の55μL液体小塊の長さは、約0.34インチ(0.864センチ)である。一般に、少なくとも約2:1の比率が液体小塊の長さと溝60の最大横寸法の間に維持されるべきである。これは、一般に、長さがその幅又は高さよりもずっと大きな溝60をもたらすであろう。とはいって、現実を考慮すると、溝60の長さと狭さは制限され得る。

【0054】装置50は、單一部品又は後で組み立てる

ための複数部品のいずれかとして、どのような適するプラスチックからでも及びどのような適するプラスチック加工法によっても組み立てることができる。かかる材料及び方法には、射出成形の如き慣用的成形技術を用いて成形された熱可塑性ポリマーが含まれるが、それらに限定されない。好例となる熱可塑性ポリマーには、ポリプロピレン、ポリメチルベンテン、及びそれらのコポリマー及び混合物が含まれる。

【0055】先に記載したように、装置50は、好ましくはポリプロピレンプラスチックから製造され、それを射出成形して、図6において112及び86で示される2つの部分を形成する。上側部分112を逆さまにして汚染除去及び増幅に必要な試薬76と80をそれぞれ溝60内の汚染除去ゾーン70と増幅ゾーン78の内上面にフィルムとして乾燥する。続いて、底部プラグ又はインサート86を上記のように上側部分112上に超音波溶接して单一装置50を形成する。

【0056】装置50では、液体生物学的サンプルは、好ましくはヘッドスペースがないようなやり方で反応域72の汚染除去ゾーン70及び増幅ゾーン78それぞれの中に閉じ込められる。ヘッドスペースとは、容器内の液体の上の空気で満たされた空間のことをいう。ヘッドスペースは、一部の液体を容器の壁又は天井で濃縮させてその液体の本体とは異なる温度で存在させるから、液体が一様な温度で化学反応を受けることが要求される系では望ましくないことが多い。異なる温度であることにより、幾つかの化学反応はにきちんと完了しない。液体サンプルの増幅の場合には、これは通常は低度の増幅しか得られないことを意味する。装置50では、液体生物学的サンプルは、殆どヘッドスペースなしに汚染除去ゾーン70及び増幅ゾーン78の天井に十分に接触する。

【0057】増幅段階を含む生物学的プロセスを行うために用いる場合、装置50の第一義的機能の1つは、汚染性アンブリコンのない環境を提供することである。汚染性核酸を含有する液体核酸サンプルに加えて、汚染した器具とのサンプルの接触がアンブリコン汚染の主要な様式である。核酸増幅を行う実験室では、全てのものが潜在的なアンブリコン汚染源である。装置50は、増幅ゾーン78内の増幅環境を物理的に隔離している。装置50の設計は、開けようと思えばいつでも開けることができる非移動部分を含むので、増幅ゾーン78をアンブリコンに汚染された外部環境に曝すことは決してない。増幅ゾーン78内のサンプルの内部接触は、両サイドで汚染除去ゾーン70と空気室72により、及び微小溝84により阻止される。

【0058】装置50を通過する空気流は、空気口96に連結された空気吸引／送出手段のピペットにより生じるエアロゾルアンブリコン汚染を最小にするように設計される。増幅前の種々の段階の間、このピペットは装置50から空気を吸引するだけで空気をその装置内に送出しな

い。こうして、そのピペットを汚染しているかも知れないアンブリコンを増幅ゾーン78から抜き出すのである。

【0059】増幅が起こると、空気流の方向が反対になる。この時、空気吸引／送出手段のピペットは装置50の中に空気を送出するだけとなる。こうして、増幅ゾーン78内のアンブリコンがピペットから離れる方向に流れゆき、ピペットのエアロゾルアンブリコン汚染の可能性が少なくなる。増幅した液体サンプルは、装置50のサンプル域62に戻ってゆき、そして後の核酸プローブアッセイ用に取り出され得る。

【0060】装置50の大きさ及び物理的形状は、同時に反応する類似の装置を多数並べるのを可能にし、そしてそれらの最終増幅アウトプットがオペレーターの介在なしに核酸プローブアッセイに自動的に移行されるのを可能にする。

【0061】図13及び14は、図1～12の装置50内の液体生物学的サンプルの移動を制御するのに用いることができる好ましいタイプの空気吸引／送出手段124を示している。この空気吸引／送出手段124は、硬質で概して円筒形のプラスチック製ピペット126を含む。軸方向導管又は内空130は、空気を送出又は吸引するためにピペット126を垂直に貫いている。図14のピペット126の上方部分132は正及び負の空気圧源（示していない）に、及び場合によっては、空気吸引／送出手段124を1又は複数の装置50の諸空気塔54と接触させるようにプログラムされたロボットマニピレーターにつながれていることが理解できるであろう。この目的のために、ピペット124の上方部分132

30 は、その内壁が頂部から底部にかけて僅かに内側に向かって細くなり、かつその底部が内空130と連絡している拡大円筒形キャビティ133を有するように形成されている。このキャビティ133は、本願と同日に出願された“System for Nucleic Acid Based Diagnostic Assay”という表題のAllen S. Reichlerらの前述の米国特許出願に記載されたように、ピペット126がロボットマニピレーターの吸引／送出ノズルに摩擦によって連結するのを可能にする。示したように小さな直径を有してもよいピペット126の下方部分134は、好ましくはシリコーンゴム製の弾力チップ136を保持する。この弾力チップ136は、形状が大体円筒形で、約0.19インチ（0.483センチ）の外径を有し、内部円筒形キャビティ138はピペット134の下方部分の大きさ及び形状と一致している。空気吸引／送出手段124の組み立てた状態では、弾力チップ136はピペット126の下方部分134の周りにぴったりと合っている。約0.050インチ（0.127センチ）の直径を有する円筒形ホール138は、弾力チップ136の下端を貫いて形成されており、類似の直径を有するピペット126の内空130と連絡している。使用に際しては、組み

40 40 50

立てられた空気吸引／送出手段 124 が（手動で又はロボットによって）下降して弾力チップ 136 を装置 50 の空気塔 54 の上端と接触させ、その結果、弾力チップ 136 内のホール 138 が空気口 96 と一直線上に並ぶ。弾力チップ 136 と空気塔 54 の間に僅かな圧力を加えることにより、空気口 96 を閉んでいる同軸シールリング 98 及び 100 が弾力チップ 136 に対して負荷をかけて僅かに変形させる。これが、ホール 138 と空気口 96 の間の界面の周りに効果的な空気シールを作り出す。次いで、装置 124 に取り付けられた正及び負の空気圧源（示していない）により空気吸引及び送出を行うことができる。スイス、Hombrechtiken の TECAN AG により製造された TECAN RSP 9000 Series の如きプログラム可能なロボット吸引／送出システムを図 13 及び 14 のピペット 126 及び弾力チップ 136 に装着することができ、そして出来た装置を用いて図 1～12 の装置 50 内での液体生物学的サンプルの移動を制御することができる。

【0062】図 1～12 の装置 50 内の液体核酸サンプルの流れ又は移動が図 13 及び 14 の空気吸引／送出手段 124 を用いて制御される様子が、図 15～31 の流れ図に示されている。

【0063】図 15 は、装置 50 の初期の空状態を示している。ピペットチップ 140 が手動又はロボットによるかのいずれかでサンプル塔 52 の中に下降し、そして液体生物学的サンプルをサンプル域 62 に導入するために、一部分がオリフィス 68 を通ってサンプル域 62 に中に下降している。装置 50 は、図 7 に示すように、普通は熱盤 122 と 123 の間に位置付けされるであろうが、図 15（及び以降の流れ図）においては平明さのために熱盤を削除してある。

【0064】図 16 は、サンプル域 62 内の液体サンプル 142 を示している。装置 50 の寸法、液体サンプル 142 の表面張力及び装置 50 を作っているプラスチック材料の湿潤性の結果として、液体サンプル 142 が明瞭な右側表面 143 を有する小塊の形にあることが観察されるであろう。結果として、この小塊は、サンプル域 62 と反応域 72 の間に隔壁がなくとも、サンプル域 62 内に留まる。

【0065】図 17 は、装置 50 の空気塔 54 に取り付けられた（そしてそれにより僅かに変形した）空気吸引／送出手段 124 の弾力チップ 136 を示している。空気吸引／送出手段 124 によって空気が装置 50 から空気口 96 を通って吸引され、その結果、液体サンプル 142 が反応域 72 の汚染除去ゾーン 70 内に移動しているところである。

【0066】図 18 は、液体サンプル 142 が尚も更に進んで反応域 72 の汚染除去ゾーン 70 内に吸引されているところである。液体小塊が汚染除去ゾーン 70 に入ると、それは汚染除去試薬 76 と接触する。

【0067】図 19 は、液体サンプル 142 が汚染除去ゾーン 70 内に完全に位置を占めていることを示している。汚染除去試薬 76 は液体小塊 142 により完全に接触され（覆われ）、そして液体小塊はその直線縁を保持している。

【0068】図 20 は、汚染除去中の液体サンプル 142 を示している。空気吸引／送出手段 124 は装置 50 から取り外されており、汚染除去が完了して次の区域に液体サンプル 142 を移動することが要求されるまで必要とされない。一方、汚染除去が完了するまで吸引を始めないなら、空気吸引／送出手段 124 を取り外さなくてよい。

【0069】図 21～24 は、空気吸引／送出手段 124 を装置 50 の空気口 96 に取り付け直して、液体サンプル 142 を汚染除去ゾーン 70 から增幅ゾーン 78 に移動させているのを示している。これは、空気吸引／送出手段 124 を用いて、装置 50 から空気口 96 を通して空気を吸引することにより行うことができる。

【0070】図 25 は、增幅中の液体小塊 142 を示している。やはり、空気吸引／送出手段 124 は、装置 50 の空気口 96 から取り外されており、增幅が完了して液体サンプル 142 を移動することが要求されるまで必要とされない。しかしながら、汚染除去段階と同じく、增幅が完了するまで空気送出を始めないなら、空気吸引／送出手段 124 を取り外さなくてよい。

【0071】図 26～29 は、空気吸引／送出手段 124 を装置 50 の空気口 96 に取り付け直して、液体サンプル 142 を汚染除去ゾーン 70 を通ってサンプル域 62 まで逆向きに移動させているのを示している。この逆の流れは、空気吸引／送出手段 124 により装置 50 に空気口 96 を通して空気を送出することにより行うことができる。好ましい態様においては、増幅したサンプル 142 をすっかり逆向きにサンプル域 62 に戻すには、空気吸引／送出手段 124 は、汚染除去ゾーン 70 及びサンプル域 62 を合わせた総容量に等しいか又はより多い容量の空気を、又は具体的に開示した態様においては、約 1.25 μL に等しいか又はより多い容量の空気を送出することになろう。

【0072】図 29 から、液体生物学的サンプル 142 が、空気吸引／送出手段 124 により、その小塊の一端が制限オリフィス 68 に強引に通されてサンプル塔 52 の底部の直ぐ上に存在するという風にして、サンプル域 62 に戻されることが注目されるであろう。この位置では、制限オリフィス 68 が小塊 142 に細管保持力を加えて、その小塊が毛管力及び重力の影響下で反応域 72 の汚染除去ゾーン 70 に向かって戻る自然の傾向を打ち消す。こうして、液体サンプル 142 をアセイ用に装置 50 から取り出すといった時まで、サンプル域 62 内に保持することができる。液体サンプル 142 をサンプル域 62 内に保持することに加えて、制限オリフィス 6

8は、それが小塊142の上部表面を幾分持ち上げてピペット等による取り出しをより便利にするという点でも有利である。

【0073】制限オリフィス68が小塊142に保持力を加える物理的メカニズムは、次のように説明することができる。液体と周囲空気の間の圧力差は、関係式 $\Delta P = 2\tau/R$ により表わすことができる。ここで、 $\tau$ は液体の表面張力であり、Rは液体が空気に曝される開口部の有効半径であり、そして $\Delta P$ は表面張力作用により生ずる最大圧力差である。制限オリフィス68は溝60の有効半径よりも小さな半径を有するので、それはサンプル域62内の小塊端により加えられる下向き圧力よりも大きな上向き圧力を小塊に加える。

【0074】図30及び31は、液体生物学的サンプル142がサンプル域62に戻って空気口96から空気吸引送出手段124を取り外した後の装置50の状態を示している。液体小塊142の表面は、オリフィス68の直ぐ上のサンプル塔52の底部に位置している。ピペット144をサンプル塔52及びオリフィス68を通して下降させると、それはサンプル域62の半ばまで達するので、それを用いて装置50からサンプルを吸引する。ピペット144は(図15のピペット140のように)使い捨てタイプのものであってもよく、そして手動で制御しても自動制御してもよい。後者の場合には先に記載したタイプの慣用的なロボット装置によつてもよい。サンプル142をサンプル域62に戻した後ピペット144により回収する前までの時間、液体小塊142は、反応域72の汚染除去ゾーン70の方向の毛管作用によりその小塊が流れる傾向を打ち消す制限オリフィス68により決まった場所に止まっている。これは、例えば、幾つかの異なる装置50が1つロボットマニピュレーターにより自動的に処理される情況では、重要な利点である。そのような情況では、液体小塊142が空気吸引送出手段124により所与の装置50のサンプル域62に戻った時間と、同じサンプル142がピペット144により回収される時間との間に、数分又はそれより長い時間が経過し得る。

【0075】図15～31により表される操作を続ける間、サンプル塔52はサンプル142の蒸発損失を軽減するという重要な働きを行う。先に説明したように、サンプルの蒸発損失は、比較的小容量(約55μL)の関与する液体、それが曝される温度(80℃まで)、及び汚染除去プロセス及び増幅プロセスが起こるのに要求される時間(それぞれ約1時間及び2時間)を仮定すれば、大きな問題であると言える。サンプル塔52がないと、サンプル域62及びオリフィス68を通ってかなりの蒸発損失が生じ得る。しかしながら、汚染除去及び増幅の間のサンプル142によりもたらされる液体蒸気は、周囲大気に逃げる前にサンプル塔52内で凝集することによって、サンプル域62及びオリフィス68から

の蒸発損失の速度を低下させる湿度勾配を形成する傾向がある。この効果は、この勾配を形成する路の長さ(サンプル塔52の高さ)を最大にし、そしてこの勾配方向を横断する横断面積(サンプル塔52の内部横断面積)を最小にすることによって最大にすることができる。このサンプル塔は、オリフィス68の付近の空気循環を制限するオリフィス68のためのシュラウドとしても働く。最後に、サンプル塔52の内壁106は、サンプル塔52が装置50のボディ部分56内で液体サンプルを10インキュベートするのに用いられる熱盤から比較的遠いので、サンプル142により生成する蒸気の凝集面として働く。サンプル塔52の内壁106上に堆積した凝集サンプル蒸気は、液滴の形でオリフィス68を通ってサンプル域62に戻り、そして図31のピペット144により液体サンプル142の残りと一緒に回収される。

【0076】図32は、所与のサンプル塔半径についての蒸発損失とサンプル塔の高さの関係を示すグラフである。このグラフは、サンプル塔の高さが増すにつれて蒸発損失が有意に減少することを示している。核酸増幅の20後に装置50がその中に配置される他の装備により課される圧迫のために、本発明の好ましい態様には0.45インチ(1.14センチ)のサンプル塔の高さを選んだが、サンプル塔の高さを更に増してもなお蒸発損失を減少できることは明白であろう。

【0077】本発明の別の態様では、サンプル塔52以外の(又はサンプル塔52の他の)構造体を用いて蒸発損失を減少させてもよい。これらには、ピエレケイブル・セプタ(pierecable septa)、多孔膜、及びロボットで転置可能なカバー又は蓋が含まれる。これらは一般的構30造体の全ては蒸発損失の減少に有効であるが、空気吸引送出手段を用いて液体小塊の制御された移動を可能にするには十分な空気を通すことが見込まれる。

【0078】この装置の反対側の空気塔54は、サンプル塔52と類似の機能を果たす。空気室82を長くすることにより、空気塔54は、空気口96を通る蒸発損失を減少させる湿度勾配及び増幅ゾーン78に凝集物を戻すことによりなおも進んで蒸発損失を減少させる比較的冷たい凝集面を提供する。加えて、空気口96の比較的小さな直径は、蒸発損失に対する追加の遮断壁を与える。

【0079】装置50の使用中、熱盤がボディ部分56の上部及び下部に配置されて、それらが反応域72の汚染除去ゾーン70及び増幅ゾーン78を覆うが、サンプル域62を覆わない。その結果として、熱盤を作動させて図15～31により表される操作の流れの間の種々の時点において反応域72に熱をかけているときは、サンプル域62の壁は反応域72の壁よりも幾分冷たいままなので加熱中の液体サンプル142により生成する蒸気の凝集面としての役割を果たす。熱盤がサンプル142に熱をかけているとき、この蒸気は主としてそれぞれ50

20及び25の汚染除去及び增幅段階の間に生成する。次いで、これら時間内にサンプル域6.2の壁の上に生成する凝集液滴は、図26~31に示すようにサンプル1~4.2がサンプル域6.2内に逆に移動するときに回収される。この凝集物回収現象は、装置5.0からの液体サンプル1~4.2の蒸発損失を更に減少させる。

【0080】一般に、本発明で用いられる液体サンプルは、そのいずれか（又は両方）が一本鎖型である、標的核酸（即ち、リボ核酸（RNA）又はデオキシリボ核酸（DNA））及び何らかの汚染性アンブリコンを含有する水性試料となろう。例えば、標的核酸は、不規則に剪断された遺伝子DNA断片を含むことができる。試料は、既知技術に従って核酸增幅操作に用いるのに適する形態となるであろう。標的核酸は、典型的には長さが約5,000ヌクレオチド~200,000ヌクレオチドの核酸断片（長さは試料中に見出される平均の長さを表わす）を含むであろう。標的核酸の中に増幅しようとする興味の対象である配列がある。増幅用の配列は僅か10塩基対から数千までに及ぶことができ、約1.5~約2.00の塩基対が好ましい。

【0081】本発明の方法により分解されるアンブリコンの長さは、そのアンブリコンが生成する個々の核酸增幅方法に依存して変動するであろうが、通常は長さが少なくとも約2.5ヌクレオチドであり、典型的には長さが約2,000ヌクレオチドより多くはないであろう。アンブリコンがストランド追い出し増幅（SDA）により生成するときは、それらは典型的には長さが約1200ヌクレオチドより多くはないであろう。

【0082】標的核酸配列を含有するサンプル中の汚染性アンブリコンを除去する汚染除去は、一本鎖特異的エキソヌクレアーゼ及び一本鎖特異的エキソヌクレアーゼを用いることを含むあらゆる適する手段により行うことができる。このことから、汚染除去試薬は1又は2以上の一本鎖又は二本鎖特異的エキソヌクレアーゼを含有することができる。例えば、R. Griffs のPCT出願WO 91/00363（1991年1月10日公開）は、PCR反応産物を5'末端エキソヌクレアーゼで汚染除去する方法を開示している。同様に、Y.S. Zhuら、Nucleic Acids Res. 19, 2511 (1991)は、PCR反応産物からアンブリコンを除去するのにエキソヌクレアーゼIIIを用いることを開示している。5'末端エキソヌクレアーゼ及びエキソヌクレアーゼIIIの両方は一本鎖特異的エキソヌクレアーゼである。本発明の実施には、アンブリコンを分解できる限り、あらゆる一本鎖特異的エキソヌクレアーゼを用いることができる。適する一本鎖特異的エキソヌクレアーゼの例には、エキソヌクレアーゼVII（例えば、J. ChaseとC. Richardson, J. Biol. Chem. 249, 4545-4552 (1974); J. ChaseとC. Richardson, J. Biol. Chem. 249, 4553-4561 (1974)を参照のこと）、エキソヌクレアーゼI（例えば、R. Brody, Biochemistry 3

0 7072-7080 (1991)を参照のこと）、Pyrococcus furiosus由来のPfu DNAポリメラーゼ（Stratagene, La Jolla, CA）、DNAポリメラーゼ、T4 DNAポリメラーゼ、脾臓エキソヌクレアーゼ（J. Biol. Chem. 253, 424 (1978)）、T5 D15エキソヌクレアーゼ（Nucleic Acids Research 19, 4127 (1991)、Thermococcus littoralis由来の“Vent”DNAポリメラーゼ（New England Biolabs, Beverly, MA）、及び3'→5'エキソヌクレアーゼ活性を有するDNAポリメラーゼが含まれるが、これらに限定されない。本発明を実施するのに用いられる3'→5'エキソヌクレアーゼ活性を有するDNAポリメラーゼは、分解されるアンブリコンがSDAの産物であるなら、ホスホロチオエート結合を分解できなければならない。概略的には、F. Eckstein, Ann Rev. Biochem. 54, 367-402 (1985)を参照のこと。（T4 DNAポリメラーゼの3'→5'エキソヌクレアーゼ活性はホスホロチオエートDNAを開裂できるが、大腸菌DNAポリメラーゼIからの活性は開裂できない）。エキソヌクレアーゼは、アンブリコンが後の核酸增幅反応の基質として役立たないように（即ち、アンブリコンによる汚染のための増幅反応用の基質としての他には役立たないであろう核酸試料からの誤った陽性結果をもたらさないように）アンブリコンを十分に分解することだけが必要であることが分かるであろう。

【0083】また、このプロセスの汚染除去段階を米国特許第5035996号又はヨーロッパ特許出願第0415755A2に教示された技術を用いて行うこともできる。まお、これら両特許は参照によりここに組み入れられるものとする。これら特許刊行物は、Life Technologies Inc.により所有されているものであって、増幅操作に用いられる4種の普通のリボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドの1種を外サンプルヌクレオチド（exo-sample nucleotide）で置換する汚染除去技術を記載している。次いで、増幅後に他のサンプルを汚染し得るあらゆるアンブリコンを物理的、化学的、酵素的、又は生物学的処理に付して、外サンプルヌクレオチドを含有するアンブリコンを実質的に増幅不能にする。好ましい外サンプルヌクレオチドは、標的核酸がDNAのときはデオキシリボヌクレオチドである。dUTPを外サンプルヌクレオチドとして用いるときは、汚染性アンブリコンをウラシルDNAグリコシラーゼ（UDG）での酵素処理に付してそのアンブリコンを増幅不能にする。

【0084】選択された核酸配列又は標的核酸配列の増幅は、どのような適する手段によっても行うことができる。概略的には、D. KwokとT. Kwok, Am. Biotechnol. Lab. 8, 14-25 (1990)を参照のこと。適する増幅技術の例には、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、リガーゼ連鎖反応（LCR）、ストランド追い出し増幅（SDA）、転写に基づく増幅（D. Kwokら, Proc. Natl. Ac

ad. Sci. USA 86, 1173-1177 (1989) を参照のこと)、自己持続的配列複製 (self-sustained sequencereplication) (又は“3SR”) (J. Guatelli ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1874-1878 (1990) を参照のこと)、Q $\beta$  レプリカーゼ系 (P. Lizardi ら, Biotechnology 6, 1197-1202 (1988) を参照のこと)、核酸配列に基づく増幅 (又は“NASBA”) (R. Lewis, Genetic Engineering News 12 (9), 1 (1992) を参照のこと)、修復連鎖反応 (又は“RCR”) (R. Lewis, 前記文献を参照のこと)、及びブーメランDNA増幅 (又は“BDA”) (R. Lewis, 前記文献を参照のこと) が含まれるが、これらに限定されない。ストランド追い出し増幅 (又は“SDA”) が好ましい。

【0085】ストランド追い出し増幅は、既知の技術に従って行うことができる。概略的には、G. Walker ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 392-396 (1992) ; G. Walker ら, Nucleic Acids Res. 20, 1691-1696 (1992) を参照のこと。例えば、SDAを一本の増幅プライマー又は一対の増幅プライマーで行ってもよく、後者では指数的増幅を達成することができる。一般に、SDA増幅プライマーは、5'方向から3'方向に、フランкиング配列 (このDNA配列は重要ではない)、この反応で用いられる制限酵素のための制限部位、及び増幅及び又は検出される標的配列にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド配列を含む。このフランкиング配列は、制限酵素がその認識部位に結合するのを容易にしつつその制限部位が切れ目をつけられた後にDNAポリメラーゼプライミング部位を提供するのに役立つのであるが、好ましくは約15～20ヌクレオチドの長さである。この制限部位は、SDA反応において機能性である (即ち、プライマーストランド内に組み入れられたホスホロチオエート結合は、非回文性認識部位の使用により満足され得る条件下で後の切れ目づけを阻害しない)。オリゴヌクレオチドプローブ部分は好ましくは約13～15ヌクレオチドの長さである。

【0086】SDAは、一本の増幅プライマーでは次のようにして行う。DNAサンプルを1又は2以上の制限酵素で消化することにより検出すべき配列を含有する制限断片 (好ましくは長さが約50～100ヌクレオチドで好ましくは低GC含量のもの) を調製し、SDA増幅プライマーをその制限断片を含有する反応混合液に加えると、その制限断片と増幅プライマー間の二重鎖が各末端において5'突き出し部分を伴って形成され、その増幅プローブ上の制限部位に結合する制限酵素 (例えば、Hinc II) をその反応混合液に加え、エキソヌクレアーゼ欠乏DNAポリメラーゼ (例えば、大腸菌DNAポリメラーゼIのエキソヌクレアーゼ欠乏型、V. Derbyshire, Science 240, 199-201 (1988) を参照のこと) をその反応混合液に加え、そして3種のdNTPと、用いられる特定の制限酵素についての制限部位においてホス

ホロチオエート結合がそのプライマーストランドの中に組み入れられるように選ばれる1種のdNTP [S]

(例えば、制限酵素がHinc IIであるときは、dGTP、dCTP、dTTP、及びdATP [S])とをその反応混合液に加える。DNAポリメラーゼがこの二重鎖の3'末端をこれらdNTPで伸長して標的ストランドの下流相補体を形成する。制限酵素が増幅プライマー上の制限部位に切れ目をつけ、そしてDNAポリメラーゼがその切れ目において増幅プライマーの3'末端を

10 伸長して、先に形成された標的ストランドの下流相補体を追い出す。このプロセスは本来反復性である。というのは、制限酵素が、その制限部位から新たな相補ストランドが形成されるとそれらに継続的に切れ目をつけ、そしてDNAポリメラーゼがその切れ目がついた制限部位から新たな相補ストランドを継続的に形成するからである。

【0087】SDAは、一対のプライマーで二本鎖標的DNA配列についても行うことができ、第2プライマーが相補ストランドの3'末端に結合するので、2組の反20 変反応が同時に起こる。このプロセスは、1組の反応の生成物がもう1組の反応における増幅プライマーについての標的として役立つので指数的に進行する。

【0088】SDA反応においてまずDNAサンプルを消化して制限断片を形成する段階は、DNAポリメラーゼのストランド追い出し作用を利用し、そしてフランкиング位置5'で基質に結合する一対の“バンパー”プライマーを各増幅プライマーが結合する位置に付加することによって削除することができる。各バンパープライマー伸長産物は、対応する増幅プライマー伸長産物を追い出す。次いで、過剰に存在する増幅プライマーが追い出されたプライマー伸長産物に結合し、そして伸長して二本鎖DNA断片が形成される。これは、その増幅プライマー対での指数的SDA用の基質として役立つことができる。

【0089】ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) も既知技術に従って行うことができる。例えば、米国特許第4,683,195号；4,683,202号；4,800,159号；及び4,965,188号を参照のこと (ここで引用した全ての米国特許文献の開示内容は参照によりここに組み入れられるものとする)。一般に、PCRは、まず、核酸サンプルを、ハイブリダイズ条件下で検出される特定配列の各ストランドについての1つのオリゴヌクレオチドプライマーで (例えば、熱安定性DNAポリメラーゼの存在下で) 処理して、各核酸ストランドに相補的である各プライマーの伸長産物をその特定配列の各ストランドに十分に相補的なプライマーで合成してそれとハイブリダイズさせ、各プライマーから合成した伸長産物を、それがその相補体と離れたときに、他のプライマーの伸長産物の合成用鉄型として役立たせることができ、次いで検出すべき1又は複数の配列が存在するならそのサンプ

ルを加熱してプライマー伸長産物をそれらの鋳型から離すことを包含する。これら段階は、好ましくはサーマル・サイクラー内で所望の度合いの増幅が得られるまで周期的に継続される。増幅した配列の検出は、反応生成物にその反応生成物とハイブリダイズすることができるオリゴヌクレオチドプローブ（例えば、本発明のオリゴヌクレオチドプローブ）であって、検出可能な標識を有するプローブを加えてから、既知技術に従ってその標識を検出することによって行うことができる。

【0090】リガーゼ連鎖反応（LCR）も既知技術に従って行うことができる。例えば、R. Weiss, Science 254, 1292 (1991)を参照のこと。一般に、この反応は二対のオリゴヌクレオチドプローブで行われ、一方の対が検出すべき配列の1本のストランドに結合し、他方の対が検出すべき配列の他のストランドに結合する。各対は一緒にになってそれが対応するストランドと完全に重複する。この反応は、まず検出すべき配列のストランドを変性（例えば、分離）してから、それらストランドを二対のオリゴヌクレオチドプローブと、熱安定性リガーゼの存在下で、各対のオリゴヌクレオチドプローブが一緒に連結するように反応させてから、反応生成物を分離し、そして配列が所望の度合いに増幅されるまでそのプロセスを周期的に反復することにより行われる。次いで、PCRに関して上で説明したのと同じようにして検出を行うことができる。

【0091】以上は本発明を説明するものであって、本発明を限定するものとして解釈されるべきではない。というのは、本発明を取り込んだ上記の方法及び装置に対して数多くの変更が当業者に明らかであろうからである。従って、本発明は特許請求の範囲の請求項により限定され、それら請求項の均等物もここに含まれる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明による装置の1態様の透視図である。

【図2】図1に示した装置の側面図である。

【図3】図2に示した装置の左端図である。

【図4】図2に示した装置の右端図である。

【図5】図2に示した装置の上部平面図である。

【図6】図1～5に示した装置の分解組立図であって、装置の底が超音波で溶接されたプラグ又はインサートにより閉じられている様子を示すものである。

【図7】図5の線7-7に沿った断面図であって、装置の内部形状を示すものである。

【図8】図7の線8-8に沿った断面図であって、サンプル域の詳細を示すものである。

【図9】図7の線9-9に沿った断面図であって、空気域の詳細を示すものである。

【図10】図9の空気域の上方部分の拡大断面図であって、空気口の周りに形成された同軸シールリングを示すものである。

【図11】図7の線11-11に沿った断面図であつ

て、装置の反応域の横断面の形状を示すものである。

【図12】図11の反応域の1下方縁部の拡大断面図であって、底部プラグ又はインサートが装置内に受け入れられている様子を示すものである。

【図13】図1～12の装置内の液体生物学的サンプルの流れを制御するのに用いられる空気吸引・送出手段の一部分の断面図である。

【図14】図1～12の装置内の液体生物学的サンプルの流れを制御するのに用いられる空気吸引・送出手段の一部分の分解組立図である。

【図15】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図16】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図17】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図18】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図19】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図20】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図21】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図22】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図23】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図24】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図25】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図26】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルがサンプル域から反応域の汚染除去ゾーン及び増幅ゾーンに流れる様子を示すものである。

【図27】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルが空気吸引／送出手段の制御下にサンプル域に戻っていく様子を示すものである。

【図28】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルが空気吸引／送出手段の制御下にサンプル域に戻っていく様子を示すものである。

\*サンプル域に戻っていく様子を示すものである。

【図29】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルが空気吸引／送出手段の制御下にサンプル域に戻っていく様子を示すものである。

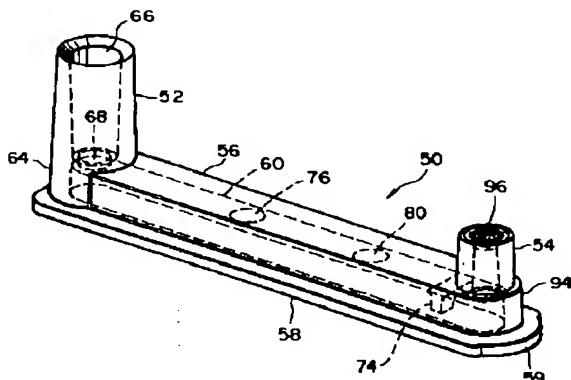
【図30】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルが空気吸引／送出手段の制御下にサンプル域に戻っていく様子を示すものである。

【図31】図7の断面図と類似の側面断面図であって、液体生物学的サンプルが空気吸引／送出手段の制御下にサンプル域に戻っていく様子を示すものである。

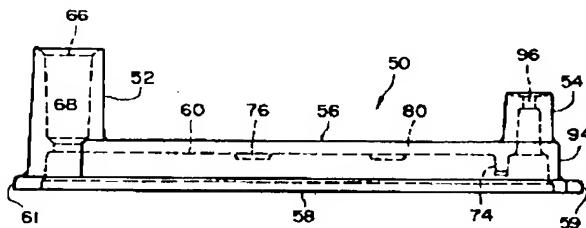
【図32】図1～12の装置におけるサンプル塔の高さと蒸発損失の間の関係を示すグラフである。

10

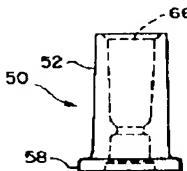
【図1】



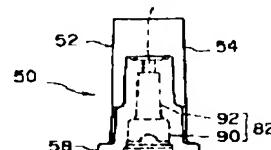
【図2】



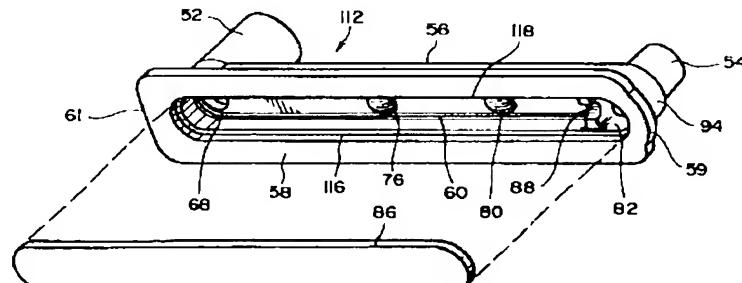
【図3】



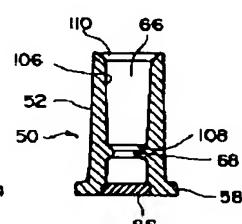
【図4】



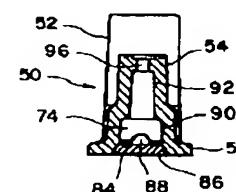
【図6】



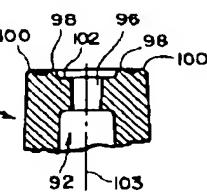
【図8】



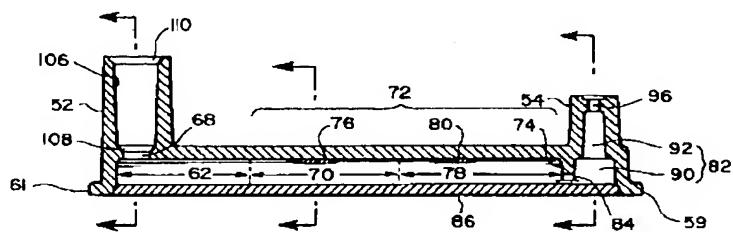
【図9】



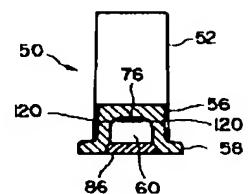
【図10】



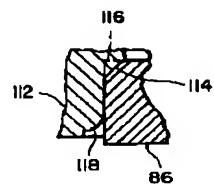
【図7】



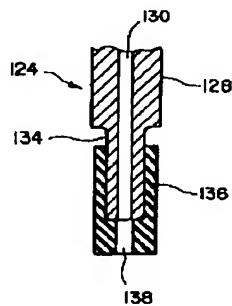
【図11】



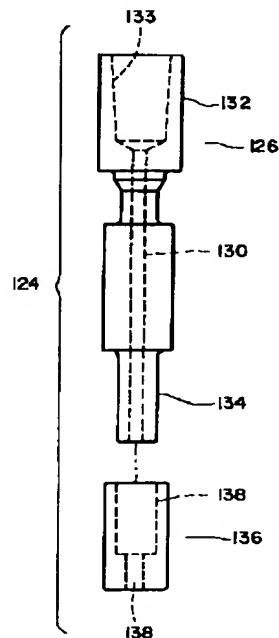
【図12】



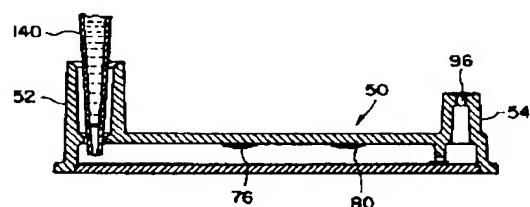
【図13】



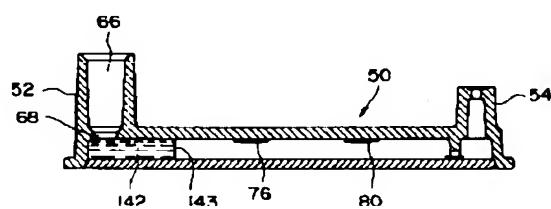
【図14】



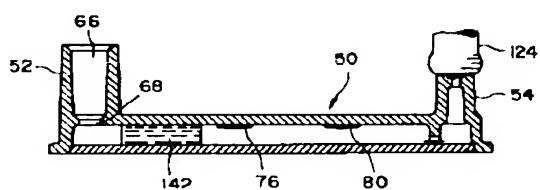
【図15】



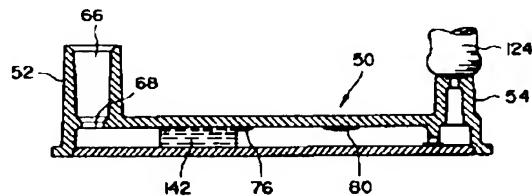
【図16】



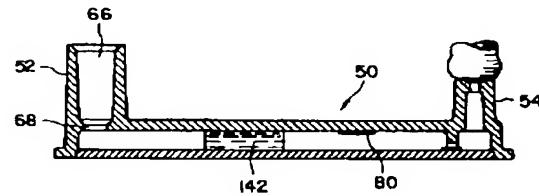
【図17】



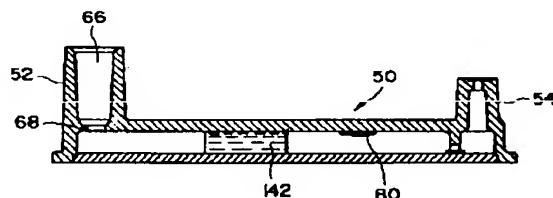
【図18】



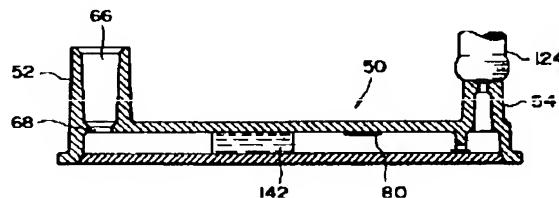
【図19】



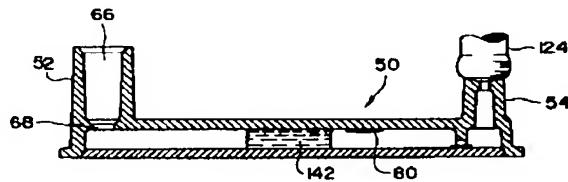
【図20】



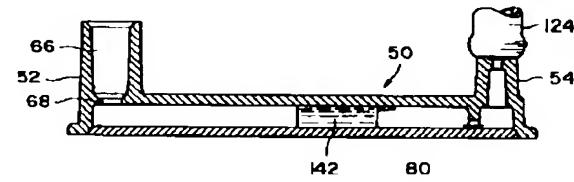
【図21】



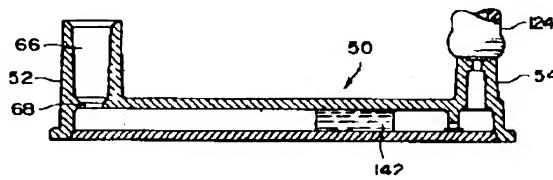
【図22】



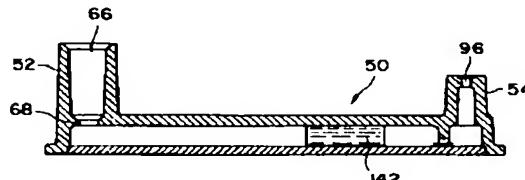
【図23】



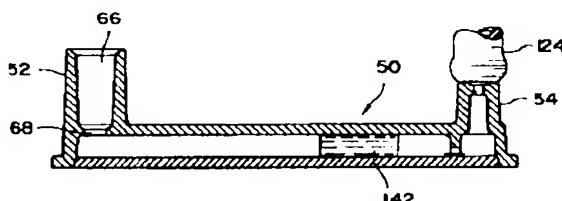
【図24】



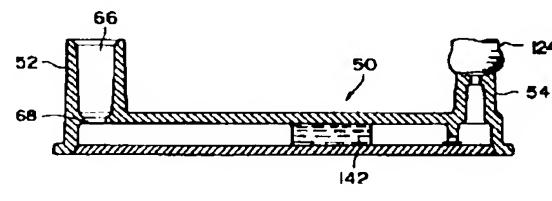
【図25】



【図26】



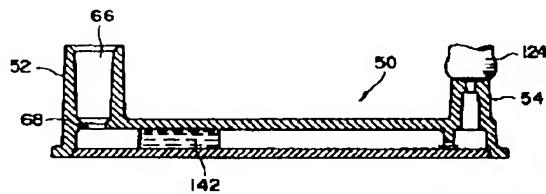
【図27】



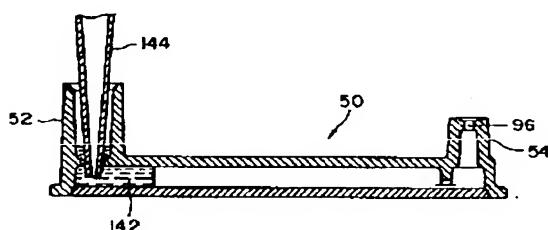
【図30】



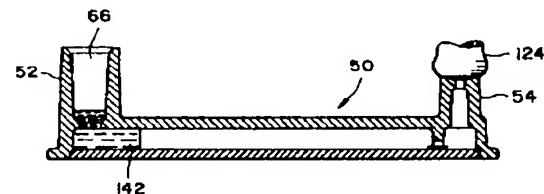
【図28】



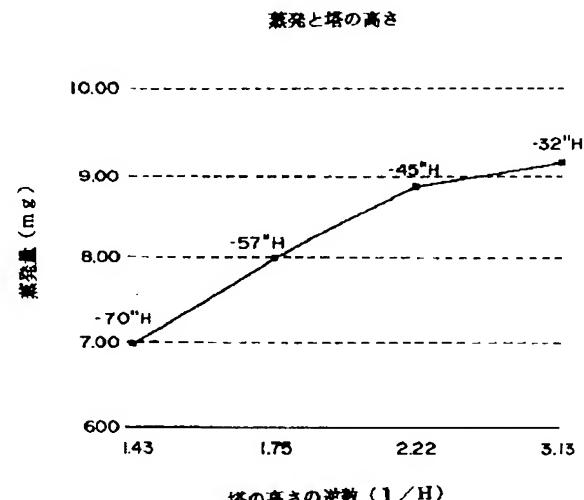
【図31】



【図29】



【図32】



フロントページの続き

(72)発明者 ピーター・エイ・バーデル  
アメリカ合衆国ペンシルバニア州17326,  
グレン・ロック, ロスター・ロード (番地  
なし), アールアール 1, ボックス 16  
ケイ

(72)発明者 レイモンド・エフ・クラコア  
アメリカ合衆国ミネソタ州55447, プリマ  
ス, フィフス・アベニュー・ノース  
16315